

放線菌 *Streptomyces lividans* TK24 の  $K^+$  チャネル KcsA, KcsA2 による  $Cs^+$  取り込みについて

○堀越 晨裕<sup>1</sup>, 安齊 洋次郎<sup>1</sup>, 福本 敦<sup>1</sup>, 加藤 文男<sup>1</sup>(<sup>1</sup>東邦大薬)

【目的】チェルノブイリ原発や福島第一原発の事故等により大気に放出された種々の放射性物質のうち  $^{137}Cs$  は特にキノコに多く蓄積すると報告されている。キノコと同様に孢子形成など形態分化する土壌細菌の放線菌はその細胞内に  $Cs^+$  を蓄積することが当研究室により明らかにした<sup>a)</sup>。 $Cs^+$  は同じ一価の金属である  $K^+$  移送系により、細胞内に取り込まれることが予想できる。放線菌 *S. lividans* TK24 の  $K^+$  チャネルである *kcsA* は  $Cs^+$  輸送には直接は関与しないという報告<sup>b)</sup>があるが、当研究室では若干ではあるが  $Cs^+$  移送に関連するという結果を得ている。*S. lividans* TK24 のゲノム (GG657756) 上には *kcsA* 遺伝子の他にその類似配列を持つ *kcsA2* 遺伝子が存在する。本研究では *S. lividans* TK24 の *kcsA*, *kcsA2* 遺伝子の欠損株を作成し、 $Cs^+$  の細胞内への取り込みについて解析した。

【方法】遺伝子欠損株の作成には大腸菌-放線菌シャトル温度感受性プラスミド pGM160 を用いた。獲得した菌株の遺伝子欠損確認は PCR によって行った。遺伝子欠損株の培養性状の比較には、YMA 培地や最小寒天培地を使用し、また、 $K^+$ 、 $Cs^+$  の濃度調節には KCl および CsCl を用いた。

【結果・考察】*S. lividans* TK24 のゲノム配列を利用して *kcsA*, *kcsA2* の上流部と下流部のそれぞれ約 1.0 kb の DNA 断片を PCR にて増幅し、*neo* 遺伝子を挟む形で pGM160 に挿入した遺伝子破壊用プラスミドを *S. lividans* TK24 へ大腸菌からの接合伝達により導入して *kcsA* 及び *kcsA2* 欠損株を取得した。各遺伝子欠損株を  $K^+$ 、 $Cs^+$  の濃度を調節した各種培地にて培養し、野生株との比較を試みている。

a) Kuwahara C et al. J Environ Radioact 102:138 (2011).

b) Hegermann J et al. Microbiol 152:2831 (2006).